

PROJETO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO - UNIFESP
CAMPUS BAIXADA SANTISTA

**EFEITO DA DIETA HIPERLIPÍDICA/HIPERGLICÍDICA MATERNA E PATERNA NOS
PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS DA PROLE FÊMEA LOGO APÓS A LACTAÇÃO**

Aluna: Gabriela Muniz Rodrigues

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciana Pellegrini Pisani

Santos

2019

RESUMO

Atualmente sabe-se que uma dieta hiperlipídica/hiperglicídica pode levar a um quadro de inflamação subclínica, além de um aumento no estresse oxidativo associado às doenças crônicas não transmissíveis. O presente estudo tem como objetivo compreender o efeito da ingestão materna assim como a ingestão paterna de dieta hiperlipídica/hiperglicídica nos parâmetros inflamatórios relacionados à via do NFkB da prole fêmea aos 21 dias de vida. Para isso, ratos Wistar machos foram separados em dois grupos e tratados durante 10 semanas antes do acasalamento, sendo divididos em dois grupos: dieta controle ou dieta hiperlipídica/hiperglicídica. As fêmeas, após constatada a gravidez, foram separadas em dois grupos: dieta controle ou dieta high-fat high-sugar durante a gestação e lactação. Foi avaliado na prole fêmea logo após a lactação: peso corporal, evolução do peso corporal, comprimento corporal, massa dos tecidos adiposos retroperitoneal e mesentérico, massa do fígado, expressão de proteínas envolvidas na via do NFkB no fígado: MYD88; NFkB p50; TRAF6. A dieta hiperlipídica/hiperglicídica materna associada a dieta paterna mostrou alterações na adiposidade e no valor da massa hepática e corporal na prole fêmea de 21 dias. Mesmo não tendo diferenças significativas quanto à inflamação, os resultados obtidos revelam que há diferenças na adiposidade entre a prole de pais e mães alimentados com dieta hiperlipídica/hiperglicídica o que pode estar associado a longo prazo a processos deletérios relacionado ao aumento de adiposidade corporal.

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A obesidade é definida como acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal, que pode prejudicar a saúde. Dados da OMS apontam que em 2011, mais de 40 milhões de crianças menores de cinco anos estavam acima do peso. Segundo o Ministério da Saúde, a obesidade cresceu mais que 50% nos últimos dez anos, atualmente sendo considerada uma pandemia. O índice de obesidade aumenta conforme o avanço da idade, porém entre os brasileiros de 25 a 44 anos o índice também é alto (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

A principal causa da obesidade é o desequilíbrio entre a ingestão e gasto energético. No mundo todo, houve uma redução da prática de atividade física e um aumento no consumo de alimentos de alta densidade energética, ricos em gordura e açúcar. A obesidade é considerada um problema de saúde pública associado a um aumento no risco das doenças crônicas como hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), dislipidemia, doença hepática e alguns tipos de cânceres. Por conta desta associação, o crescente número de indivíduos com obesidade, torna-se uma relevante preocupação mundial, uma vez que pode comprometer os setores de serviço, além de efeitos adversos sobre a qualidade de vida das pessoas (FRANCISQUETI, 2014).

É bem estabelecido que dietas hipercalóricas podem levar a condições de sobrepeso e obesidade, o que pode desencadear um estado de inflamação de baixo grau e como consequência, alterações metabólicas mediada pelo aumento de tecido adiposo branco, especialmente visceral. No entanto, o tempo necessário para que essas mudanças ocorram ainda é desconhecido. Uma resposta inflamatória decorrente do acúmulo de tecido adiposo é dependente de um maior tempo de exposição à dieta hipercalórica, assim como hiperlipídica (FRANCISQUETI, 2014).

A obesidade materna pode influenciar o transcriptoma do tecido adiposo branco e aumentar a propensão para adipogênese na prole, antes do desenvolvimento da obesidade (BORENGASSER, S. J., et al., 2013). A alteração epigenética na principal fase de desenvolvimento fetal leva ao que é denominado programação metabólica e está associado a alterações fisiológicas que pode perdurar ao longo da vida.

Frente ao exposto, a hipótese deste trabalho é que a dieta hiperlipídica e hiperglicídica tanto paterna quanto materna possa programar a resposta inflamatória na prole logo após a lactação, e predispor o indivíduo ao desenvolvimento de obesidade e doenças crônicas.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O processo inflamatório pode ser considerado um mecanismo de defesa do organismo. De um modo geral, em resposta a um estímulo físico, químico ou biológico o organismo reage com a liberação, ativação ou síntese de substâncias conhecidas como mediadores químicos da inflamação (BECHARA & SZABÓ, 2006).

A obesidade é caracterizada por um baixo grau de inflamação crônica marcada por duas evidências científicas: presença de macrófagos infiltrados no tecido adiposo branco (TAB) dos indivíduos com obesidade e a elevação de marcadores e citocinas inflamatórias. Há evidências que esse estado inflamatório esteja relacionado a desordens como resistência insulínica, diabetes mellitus, hiperlipidemia, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica (LEITE et al., 2009).

Indivíduos com obesidade podem ter um aumento na quantidade de lipopolissacarídeos (LPS) plasmáticos. Os LPS estão presentes nas membranas de bactérias gram negativas e são ativadores da via do *toll like receptor 4* (TLR4). Uma vez ativado gera uma cascata de sinais que levam ao aumento da expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias incluindo o TNF- α e IL-6 (VALLERA, 2017).

Com a ativação do TLR-4, os adaptadores moleculares, como o fator de diferenciação mieloide 88 (MYD88) e a proteína adaptadora contendo domínio TIR (TIRAP), são agregados ao TLR-4 através de interações TIRTIR. Sucessivamente, o MYD88 interliga-se à proteína quinase-4 associada ao receptor da IL1 (IRAK-4). O IRAK-4 por sua vez, ativa a proteína IRAK-1. Resultando na interação e ativação do TRAF-6 e de outras proteínas ubiquitina ligases E2, então ocorre a formação de um complexo proteico contendo fator de transformação do crescimento- β (TGF- β), quinase-1 ativada (TAK1), proteína-1 de ligação TAK1 (TAB-1), TAB-2 e TAB-3. A ativação do complexo TAK1/TAB estimula a via de sinalização do NF κ B. Finalmente, as subunidades da enzima quinase do inibidor do NF κ B, denominadas IKK- β , IKK α e o NEMO (IKK- γ), juntas, participam da fosforilação do I κ B- α . A proteína I κ B α fosforilada, é ubiquitinada e degradada, liberando o NF κ B para se translocar ao núcleo e iniciar a transcrição de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , IL-1 β e IL-6 (CARMODY & CHEN, 2007).

Distúrbios nutricionais como a obesidade, podem ser decorrentes do fenômeno de programação metabólica fetal e pode estar relacionado ao aparecimento de doenças crônicas não transmissíveis. Programação metabólica é um fenômeno que ocorre na principal fase de desenvolvimento – durante a vida fetal e na lactação – que

podem levar a repercussões fisiológicas desde o crescimento até a vida adulta. (PATEL & SRINIVASAN, 2010).

Um dos aspectos predominantemente biológicos, relacionados à hipótese da programação fetal, é o baixo peso ao nascer que resulta de condições intrauterinas adversas, o que promoveria uma reprogramação compensatória durante a infância, levando a um maior risco de doenças crônicas na idade adulta. Outro aspecto ressalta a influência de fatores pós-natais no risco de obesidade, tais como o ganho de peso durante a infância, independente dos aspectos relacionados à biologia fetal, podendo estar ligado ao período de lactação (SILVA, 2015).

A gestação por si só caracteriza um estado inflamatório basal durante o desenvolvimento fetal (SACKS et al., 2004). Em um estudo onde foi avaliado se o estado inflamatório característico da obesidade poderia intensificar o nível basal de inflamação na placenta durante a gestação, foi encontrado uma produção exacerbada de mediadores inflamatórios e acúmulo de macrófagos, intensificando a inflamação na placenta de gestantes com obesidade, abrindo espaço para discussões sobre as repercussões que essa modificação no ambiente uterino pode ocasionar no feto após o nascimento (CHALLIER et al., 2008). Autores mostram que apenas o consumo de alimentos ricos em gordura durante a gestação e lactação já predispõe a prole à resistência a insulina e fígado gorduroso (GREGORIO et al., 2010; ASHINO et al., 2012).

O dimorfismo sexual no índice de adiposidade reflete uma resposta sexual diferencial ao conteúdo de ácidos graxos da dieta. Considerando que a composição corporal e a distribuição de gordura dependem do sexo, o estudo com fêmeas é relevante para a compreensão do dimorfismo sexual já conhecido em resposta a diferentes tipos de dieta (GILBERT et al, 2008; CHAABO et al, 2010; ESTRANY et al, 2011; ROSA N. A. V., 2011).

Dados de estudos epidemiológicos e em animais fornecem evidências de que a alimentação paterna e as condições de saúde do pai podem programar as gerações posteriores (ORNELLAS, F. et al., 2017). A programação metabólica decorrente de alterações paterna foi inicialmente descrita em animais. Autores demonstraram que pais obesos programam a lipogênese e a beta-oxidação no fígado e no hipotálamo da prole. (ORNELLAS, F. et al., 2016; NG, SF. Et al. 2010; ORNELLAS, F. et al., 2016)

Em revisão autores mostraram que camundongos machos alimentados com uma dieta rica em gordura geraram uma prole feminina com homeostase glicose-insulina deficiente. Foram encontradas alterações no transcriptoma do tecido adiposo retroperitoneal e de ilhotas pancreáticas na prole feminina.

Frente ao exposto, é importante e relevante estudos com foco nas alterações fisiológicas na prole fêmea decorrente da exposição fetal e neonatal à dieta hiperglicídica e hiperlipídica materna associada a dieta paterna.

OBJETIVO

Avaliar o efeito da ingestão materna e paterna de dieta hiperlipídica/hiperglicídica na adiposidade e parâmetros inflamatórios relacionados à via do NFkB da prole fêmea logo após a lactação - 21 dias de vida.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Nos progenitores avaliar:

- Ingestão alimentar;
- Peso corporal;
- Evolução do peso corporal.

Na prole fêmea aos 21 dias avaliar:

- Peso corporal;
- Evolução do peso corporal;
- Comprimento corporal;
- Massa dos tecidos adiposos retroperitoneal e mesentérico;
- Massa do fígado;
- Expressão de proteínas envolvidas na via do NFkB no fígado: MyD88; NFkB p50; TRAF6;

METODOLOGIA

Animais

Ratos Wistar machos e fêmeas virgens, com dois meses de idade, procedentes do Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais (CEDEME) da UNIFESP/Vila Clementino, foram transferidos para o biotério do Departamento de Biociências do Campus Baixada Santista da UNIFESP e mantidos sob condições de ciclo de luz (12 horas claro e 12 escuro) e temperatura ($24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) controladas, com água e comida *ad libitum*.

Os ratos machos foram mantidos em gaiolas plásticas e distribuídos em dois grupos de acordo com a dieta que receberam. Receberam a dieta controle (n=3) ou hiperlipídica/hiperglicídica (n=3) por dez semanas e após esse período foram cruzados com ratas fêmeas de três meses de idade.

Após o acasalamento, no dia seguinte, verificou-se a presença de espermatozoides na luz vaginal com o auxílio de um microscópio. Para isto, uma pequena quantidade de solução salina (0,9%) foi introduzida na vagina e novamente aspirada, utilizando-se um conta-gotas.

Constatada a provável concepção (1° dia da gestação), as fêmeas foram mantidas em gaiolas plásticas individuais. Foram distribuídas, sequencialmente, em dois grupos distintos, recebendo dieta hiperlipídica/hiperglicídica (n=3) ou dieta controle (n=3) durante a gestação e lactação. No dia do nascimento, considerado dia zero da lactação, a ninhada foi ajustada para oito filhotes por mãe.

Os filhotes foram pesados e medidos (comprimento naso-anal) semanalmente após o nascimento. No 21° dia da lactação parte dos filhotes e as mães foram eutanasiados conforme recomendado pela diretriz da prática de eutanásia do CONCEA (2015). Algodão embebido com anestésico inalatório isoflurano foi colocado em um recipiente fechado juntamente com o animal, com uma separação física entre o animal e o algodão, para evitar o contato direto do animal com o líquido no algodão, dada a irritação das mucosas, fazendo com que o animal seja exposto apenas ao vapor.

O método de decapitação foi realizado imediatamente após a perda de consciência do animal, para que a eutanásia seja de forma mais humanitária possível e que não haja sofrimento para o animal. De acordo com a Resolução Normativa nº 6, de 10 de julho de 2012, a eutanásia foi realizada após consulta com Médico Veterinário da UNIFESP, campus Baixada Santista. Todos os procedimentos experimentais foram submetidos à Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Paulo.

Este trabalho faz parte de um projeto de doutorado aprovado pelo CEUA nº 8226190517. O material proposto neste projeto já foi coletado.

Expressão de proteínas envolvidas na via do NFkB no fígado: MYD88; NFkB p50; TRAF6

A extração de proteínas foi feita através de tampão específico, preparado no dia do experimento, para obtenção de extratos proteicos totais tendo a seguinte composição: Trizma base 100 mM pH 7.5, EDTA 20 mM, fluoreto de sódio 100 mM,

pirofosfato de sódio 100 mM, ortovanadato de sódio 10 mM, PMSF (Fluoreto de Fenilmetilsulfonil) 2 mM e 0.1mg de aprotinina por mL. As amostras foram rapidamente homogeneizadas utilizando-se um polítron, em seguida, foram adicionados 80 µL de 1% Triton X-100 e aguardados 30 minutos. O homogenato foi centrifugado por 40 minutos a 14000rpm a 4°C. O sobrenadante foi mantido em gelo e o teor de proteínas totais, determinado pelo método de Bradford usando o reagente da Bio-Rad (Bio-Rad, Hercules, Califórnia, USA), que tem como referência a albumina de soro bovino.

As amostras foram adicionadas ao tampão de LaemmLi (azul de bromofenol 0,01%, fosfato de sódio 100 mM pH 7.0, glicerol 50%, SDS 10%) na proporção de 4:1, contendo 100mM de DTT. O volume de 50µg de proteína foi fervido por 5 minutos antes de ser submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida desnatante a 10% (SDS-PAGE). Após eletroforese, as amostras foram eletrotransferidas para membranas de nitrocelulose em um aparato de transferência Trans-Blot® TurboTM Transfer System (Bio-Rad, Hercules, Califórnia). Para redução das ligações proteicas não específicas, a membrana foi bloqueada overnight em 5 mL de solução bloqueadora, composta de solução basal (Trizma base 100 mM pH 7.5, NaCl 500 mM, Tween 20 500µL/mL) contendo 1% de albumina de soro bovino (BSA). Em seguida, foi feita a incubação da membrana overnight a 22°C com anticorpos primários contra MyD88; NFkB p50; TRAF6.

Os anticorpos foram diluídos em solução bloqueadora e em seguida, as membranas lavadas por 30 minutos em solução basal.

A membrana foi então incubada com anticorpo secundário associado à peroxidase por uma hora a 22 °C. O anticorpo secundário constitui sempre de uma antiimunoglobulina dirigida contra o animal produtor de anticorpo primário. Para a avaliação da carga de proteína, as membranas foram “stripadas” e novamente incubadas com o anticorpo primário anti-β-actina. A membrana foi revelada por quimioluminescência após adição do reagente de revelação ECL (Amersham/GE) e exposta ao Fotodocumentador Alliance 4.7 (Uvitec, Cambridge, UK). As bandas de interesse foram quantificadas por densitometria, utilizando-se o programa Image J (ImageJ, National Institute of Health, Maryland, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. DADOS PTERNOS

Os dados paternos nos mostram que o grupo recebendo dieta hiperlipídica/hiperglicídica (HFS) consumiu, significativamente, menor quantidade em gramas, da dieta que o grupo controle (CD). Em um estudo (ORNELLAS, F. et al.)

realizado em 2015 os grupos hiperlipídico e controle ingeriram a mesma quantidade de dieta. A diferença encontrada em nossos resultados pode ser devido ao tipo de dieta ministrada, uma vez que, no presente trabalho utilizamos a dieta hiperlipídica/hiperglicídica e no trabalho citado foi utilizado apenas dieta hiperlipídica. Além da diferença nas espécies, sendo que utilizamos ratos Wistar e os autores utilizaram camundongos (ORNELLAS, F. et al., 2015).

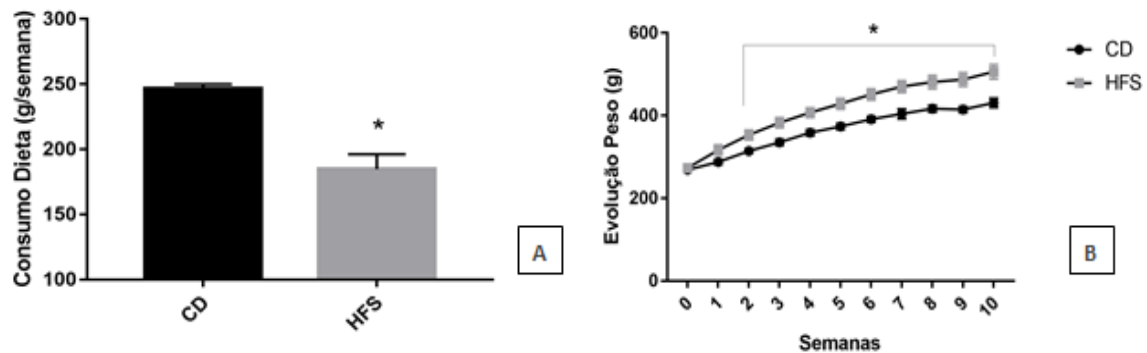


Figura 1. A: Consumo total dos pais, em gramas, por 10 semanas nos grupos Controle (CD) e *High-fat and sugar* (HFS). **B:** Peso paterno, em gramas, por 10 semanas nos grupos Controle (CD) e *High-fat and sugar* (HFS). Diferenças significantes foram consideradas como $*p < 0,05$ comparado ao grupo CD e o $n = 3$.

Em relação ao peso, a partir da segunda semana de tratamento até a décima, os ratos do grupo HFS apresentaram peso superior comparado ao grupo controle. Ainda no estudo (ORNELLAS, F. et al., 2015) citado anteriormente, foi visto um comportamento semelhante, em que os pais que receberam uma dieta hiperlipídica aumentaram significativamente seu peso no período de pré-acasalamento.

Portanto, devido ao aumento do peso paterno associado a redução na ingestão energética, podemos sugerir nos animais alimentados com uma dieta hiperlipídica/hiperglicídica uma alteração na eficiência metabólica, onde há um maior armazenamento de energia mediante a ingestão alimentar (figura 1).

2. DADOS MATERNOS

A figura 2 mostra que o grupo HFS consumiu, significativamente, menor quantidade de dieta na última semana de gestação, quando comparado ao grupo controle. Situação contrária à última semana de lactação, onde o grupo HFS apresentou significativamente maior consumo de dieta em comparação ao CD.

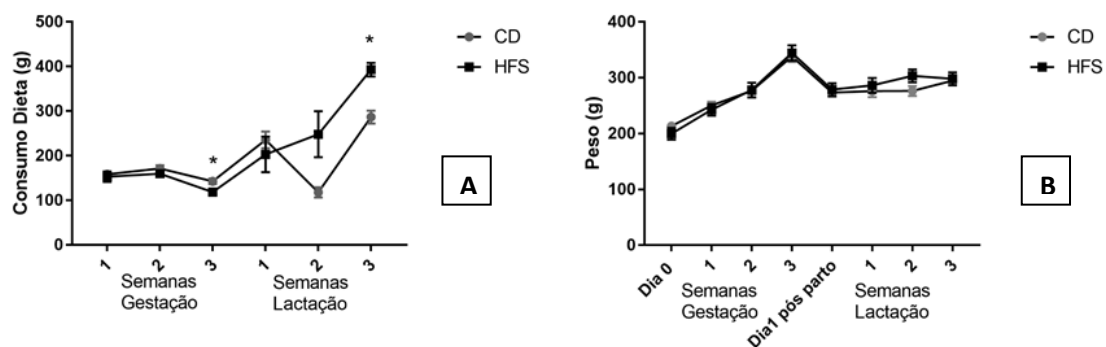


Figura 2. A: Consumo total das mães, em gramas, no período de gestação e lactação nos grupos Controle (CD) e *High-fat and sugar* (HFS). **B:** Peso materno, em gramas, no período de gestação e lactação nos grupos Controle (CD) e *High-fat and sugar* (HFS). Diferenças significantes foram consideradas como $*p < 0,05$ comparado ao grupo CD e $n = 3$.

Porém, não houve diferença significativa no peso entre os dois grupos durante a gestação e lactação como observado em um estudo em que as gestantes foram submetidas à dieta hiperlipídica e hiperglicídica (HFS) no período de gestação e lactação. Em contrapartida, nesse mesmo estudo, durante a lactação os animais do grupo HFS apresentaram o peso significativamente maior que o grupo controle (PAUL, Heather A. 2017).

3. PROLE COM 21 DIAS

A prole de 21 dias quando submetidas a dieta HFS materna, apresentou diferenças significantes quando comparado ao grupo CD (controle) e PH (pai HFS), sendo seu peso superior até o 14º dia de vida. Assim como o grupo PMH (mãe e pai HFS), que também mostrou, significantemente, maior peso comparado ao Controle (figura 3).

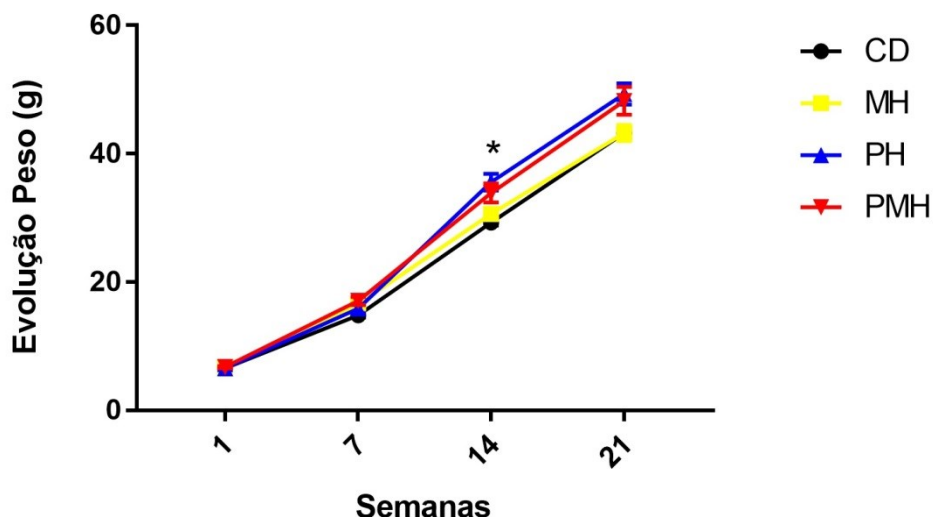


Figura 3. Evolução do peso da prole fêmea até os 21 dias de vida nos grupos CD (dieta paterna e materna controle), MH (dieta paterna controle e dieta materna *high-fat and sugar* HFS), PH (dieta paterna *high-fat and sugar* HFS e dieta materna controle), PMH (dieta paterna e materna *high-fat and sugar* HFS). Diferenças significantes foram consideradas como * $p < 0,05$ comparado ao grupo CD; # $p < 0,05$ comparado ao grupo PH; & $p < 0,05$ comparado ao grupo MH; Anova de 1 via, test post hoc de Bonferroni ($n=24$).

O peso dos grupos CD e PH se mostraram significativamente menor, em relação ao grupo MH no 14º dia de vida. Autores comprovam que a obesidade paterna impacta de modo negativo a prole (BARBOSA, T. D. C. et al., 2015; ORNELLAS, F. et al., 2017). Após o 14º dia de vida, não houve diferenças significativas quanto ao peso entre os grupos.

Os impactos negativos da obesidade materna induzida pela dieta na adiposidade e metabolismo da prole são bem estabelecidos (MORRIS, M., 2014). Durante o período de lactação, um alto consumo de gorduras altera a composição do leite materno, aumentando a disponibilidade de ácidos graxos para o feto e impactando negativamente nos níveis séricos de colesterol e triacilglicerol, peso corporal, adiposidade e capacidade termogênica (PRIEGO et al., 2013; SIMINO, L. A. d. P., 2015). Quando ambos os pais são obesos, os efeitos observados na prole masculina e feminina são exacerbados (ORNELLAS, F. et al., 2015).

No presente estudo, o peso absoluto do tecido adiposo mesentérico mostrou-se significativamente maior apenas no grupo MH em relação aos grupos controle e PH. Porém, o peso absoluto do tecido adiposo retroperitoneal da prole MH e PMH mostrou-se significativamente maior em relação aos grupos CD e PH. Como ocorreu em um estudo que ratas gestantes foram alimentadas com dieta controle ou hiperlipídica. As diferenças indicaram que a dieta HF materna aumentou a massa retroperitoneal da prole logo após a lactação (ALMEIDA, M. M. et al. 2017).

Assim como o peso absoluto retroperitoneal, a soma dos tecidos adiposos retroperitoneal e mesentérico foi significativamente maior nos grupos MH e PMH, ambos em relação aos grupos CD e PH (Fig 5). Esses resultados estão associados a um efeito na adiposidade visceral com influência direta principalmente materna, mas também associado ao padrão dieta paterna. O que nos leva a sugerir uma programação fetal relativa ao tecido adiposo visceral.

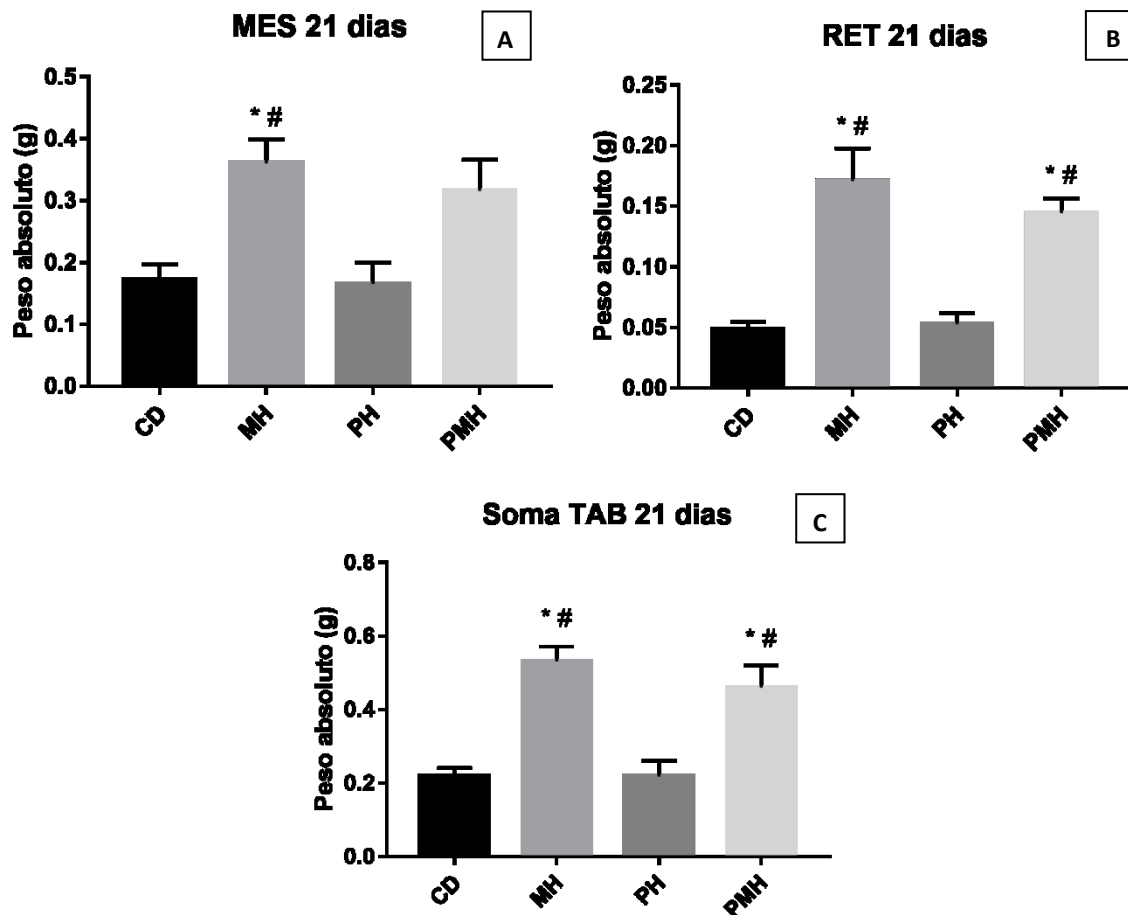


Figura 5. **A:** Peso absoluto do tecido mesentérico em gramas. **B:** Peso absoluto do tecido retroperitoneal em gramas. **C:** Soma do tecido mesentérico e retroperitoneal em gramas. Prole de 21 dias de vida, nos grupos CD (dieta paterna e materna controle), MH (dieta paterna controle e dieta materna *high-fat and sugar* HFS), PH (dieta paterna *high-fat and sugar* HFS e dieta materna controle), PMH (dieta paterna e materna *high-fat and sugar* HFS). Diferenças significantes foram consideradas como * $p < 0,05$ comparado ao grupo CD; # $p < 0,05$ comparado ao grupo PH; & $p < 0,05$ comparado ao grupo MH; Anova de 1 via, test post hoc de Bonferroni ($n=24$).

O peso absoluto do fígado mostrou-se significativamente maior no grupo PMH em comparação ao Controle e ao PH. Reforçando o que o estudo de CARAPETO P. V. et. al. (2018) que observaram alterações hepáticas na prole quando ambos os pais consomem uma dieta HFR (alta em frutose). O peso do fígado aumentado pode estar associado a maior metabolização hepática das a dieta rica em açúcares e gorduras proveniente dos progenitores. Os resultados vão de encontro com estudo de BENATTI el al. (2014), que também encontraram aumento hepático na prole do grupo de mães alimentadas com dieta hiperlipídica (Fig 6).

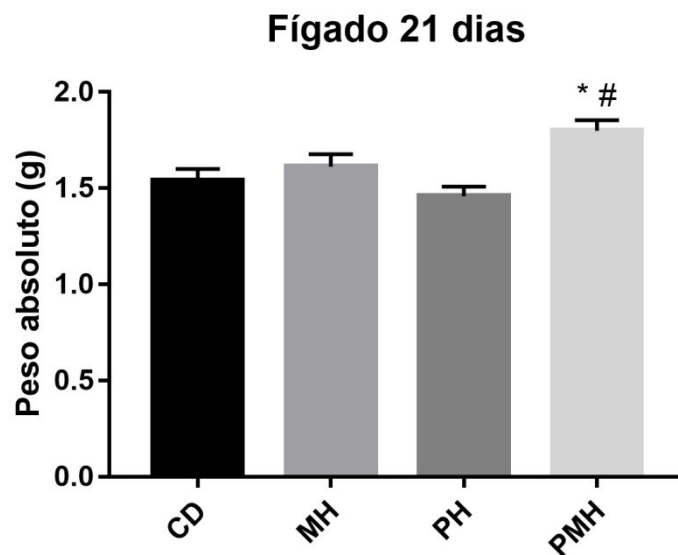


Figura 6. Peso absoluto da massa do fígado nos grupos CD (dieta paterna e materna controle), MH (dieta paterna controle e dieta materna *high-fat and sugar* HFS), PH (dieta paterna *high-fat and sugar* HFS e dieta materna controle), PMH (dieta paterna e materna *high-fat and sugar* HFS). Diferenças significantes foram consideradas como * $p < 0,05$ comparado ao grupo CD; # $p < 0,05$ comparado ao grupo PH; & $p < 0,05$ comparado ao grupo MH; Anova de 1 via, test post hoc de Bonferroni (n=24).

Quanto a expressão de proteínas pró-inflamatórias, no fígado da prole, não houve diferença significativa do NF κ B p50, MYD88 e TRAF6. Estes resultados podem ter ocorrido por conta do curto tempo de exposição à dieta HFS. Apesar de não terem sido encontradas alterações, o aumento do tecido adiposo branco em longo prazo pode levar à ativação de macrófagos do tipo M1 (FLOR, B. M. S. S. et al., 2018). Esses macrófagos estão associados a produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF α , IL-1 β e IL-6, o que a longo prazo pode influenciar no aparecimento das doenças crônicas não transmissíveis (Fig 7).

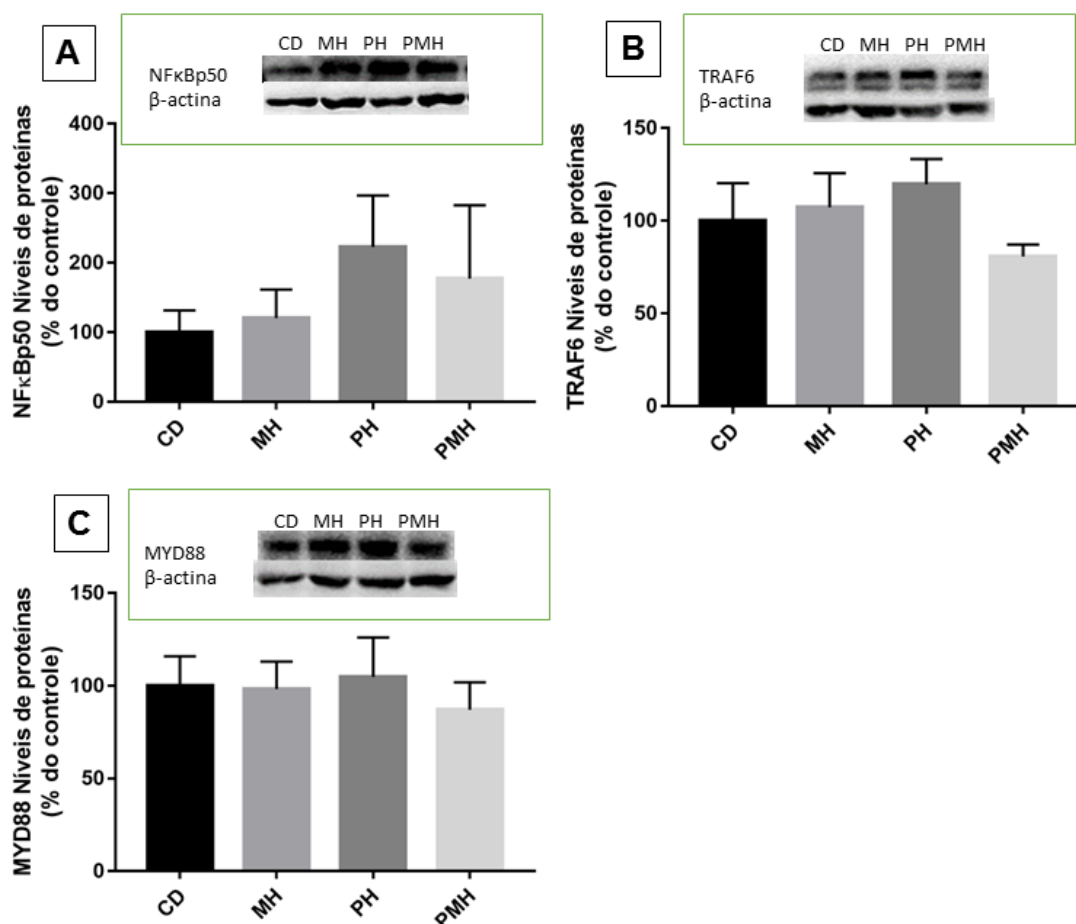


Figura 7. A: Níveis de NFκBp50 no fígado. **B:** Níveis de TRAF6 no fígado. **C:** Níveis de MYD88 no fígado. Níveis de proteínas da prole fêmea com 21 dias de vida nos grupos CD (dieta paterna e materna controle), MH (dieta paterna controle e dieta materna *high-fat and sugar* HFS), PH (dieta paterna *high-fat and sugar* HFS e dieta materna controle), PMH (dieta paterna e materna *high-fat and sugar* HFS). Diferenças significantes foram consideradas como * $p < 0,05$ comparado ao grupo CD; # $p < 0,05$ comparado ao grupo PH; & $p < 0,05$ comparado ao grupo MH; Anova de 1 via, test post hoc de Bonferroni ($n=6$).

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados demonstram que a dieta hiperlipídica/hiperglicídica apenas materna e associada à dieta paterna levam a alterações na adiposidade e no valor da massa hepática na prole fêmea de 21 dias. Mesmo não havendo diferenças significativas quanto à inflamação, os resultados obtidos revelam influência da programação metabólica fetal, ao que concerne a dieta, no metabolismo lipídico e

desenvolvimento somático da prole fêmea, o que pode estar associado a processos deletérios ao longo da vida.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, M. M. et al. Perinatal maternal high-fat diet induces early obesity and sex-specific alterations of the endocannabinoid system in white and brown adipose tissue of weanling rat offspring. *British Journal of Nutrition*, Rio de Janeiro, p. 1-16, set./2017.
2. BARBOSA, T. D. C. et al. High-fat diet reprograms the epigenome of rat spermatozoa and transgenerationally affects Q5 metabolism of the offspring. *Molecular Metabolism*, v. 5, n. 3, p. 184-197, dez./2015.
3. BECHARA, G.H.; SZABÓ, M.P.J. Processo Inflamatório: Alterações Vasculares e Mediação Química. p. 1-15, 2006.
4. BENATTI, R. O. et al. Maternal high-fat diet consumption modulates hepatic lipid metabolism and microRNA-122 (miR-122) and microRNA-370 (miR-370) expression in offspring. *British Journal of Nutrition*, v. 111, p. 2112-2122, mar./2014.
5. BORBA, Alberto José de. Efeito da dieta hiperlipídico-protéica no metabolismo de ratos wistar adultos. Uberaba, jan./2008.
6. BORENGASSER, Sarah J. et al. A obesidade materna aumenta a diferenciação do tecido adiposo branco e altera a metilação do DNA em escala de genoma em filhotes de ratos machos. *Endocrinology*, v.154, n. 11, pag. 4113–4125 nov./2013.
7. CARAPETO PV, ORNELLAS F, MANDARIM-DE-LACERDA CA, AGUILA MB. Liver metabolism in adult male mice offspring: consequences of a maternal, paternal or both maternal and paternal high-fructose diet. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*. p. 1-10, 2018.
8. CARONE BR, FAUQUIER L, HABIB N, SHEA JM, HART CE, Li R, et al. Paternally induced transgenerational environmental reprogramming of metabolic gene expression in mammals. *Cell*, v.143, n.7, p. 1084, 2010.
9. CHAABO F, PRONCZUK A, MASLOVA E. e KC HAYES. Nutritional correlates and dynamics of diabetes in the Nile rat (*Arvicanthis niloticus*): a novel model for diet induced type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Nutrition & Metabolism*, abr./2010.
10. CARMODY, R. J.; CHEN, Y. H. Nuclear factor-kappaB: activation and regulation during toll- like receptor signaling. *Cell Mol Immunol*, v. 4, n. 1, p. 31-41, Feb./2007.

11. ESTRANY M. E., PROENZA A. M., LLADÓ I., GIANOTTI M. Isocaloric intake of a high-fat diet modifies adiposity and lipid handling in a sex dependent manner in rats. *Lipids in Health and Disease*, abr./2011.
12. FERNÁNDEZ, Douglas; HEREDIA, Danay; ALFONSO, Jesús; GARCÍA, Julieta; GONZÁLEZ, Emilio. Estrés oxidativo en niños obesos. *Acta Bioclinica*, v.4, n.8, pag. 71-84, dez./2014.
13. FLOR, Bruna Madeleine da Silva Simplício; BOCCATO, Camila de Castello Branco; BERTAZZO, Débora Penna Chaves; DEZAN, Maria Fernanda Rosa; DEGASPERI, Giovanna Rosa. Polarização de macrófagos na obesidade: mini-revisão. *Biosaúde, Londrina*, v. 20, n. 1, 2018.
14. FRANCISQUETI, Fabiane Valentini. Papel do TLR-4 na resposta inflamatória e resistência à insulina no tecido adiposo em condição de sobrecarga nutricional crônica. Botucatu, 2014.
15. FRANCISQUETI, Fabiane Valentini; NASCIMENTO, André Ferreira do Nascimento; CORRÊA, Camila Renata. Obesidade, inflamação e complicações metabólicas. Botucatu, abr./2015.
16. FRÓES, Fernanda Carolina Telles da Silva. Obesidade: um enfoque na inflamação periférica e central. Porto Alegre, 2012.
17. GILBERT J. S. e NIJLAND M. J. Sex differences in the developmental origins of hypertension and cardiorenal disease. *American journal of physiology*, dez./2008.
18. KAUSS, Fernando. Agentes oxidantes e antioxidantes. Rio Grande do Sul, 2005.
19. LEITE, Lúcia Dantas; ROCHA, Érika Dantas De Medeiros; NETO, José Brandão-Neto. Obesidade: uma doença inflamatória. Porto Alegre, jul./2009.
20. MORRIS, Margaret. Early life influences on obesity risk: maternal overnutrition and programming of obesity. *Expert Rev. Endocrinol. Metab.*, v. 4, n. 6, p. 625-637, jan./2014.
21. MOURA, Leandro Pereira de et al. Alterações bioquímicas e hepáticas em ratos submetidos à uma dieta hiperlipídica/hiperenergética. Campinas, dez./2012.
22. NEVES, Cibele Ferreira. Avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo e estado inflamatório em pacientes em pré e pós-operatório de cirurgia da obesidade. Brasília, D. F., 2010.
23. NG S. F., LIN R. C., LAYBUTT D. R., BARRES R., OWENS J. A., MORRIS M. J. Chronic high-fat diet in fathers programs beta-cell dysfunction in female rat offspring. *Nature*, v.467, pag.963-967, out./2010.
24. NG S. F., LIN R. C., MALONEY C. A., YOUNGSON N. A., OWENS J. A., MORRIS M. J. Paternal high-fat diet consumption induces common changes in

- the transcriptomes of retroperitoneal adipose and pancreatic islet tissues in female rat offspring. *FASEB J*, v.28, p. 1830, 2014.
25. ORNELLAS F. et al. Obese fathers lead to an altered metabolism and obesity in their children in adulthood: review of experimental and human studies. *Jornal de Pediatria*, Rio de Janeiro, v.93, n.6, dez./2017.
 26. ORNELLAS, F. et al. Programming of Obesity and Comorbidities in the Progeny: Lessons from a Model of DietInduced Obese Parents. *PLOS ONE*, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, abr./2015.
 27. ORNELLAS F., SOUZA-MELLO V., MANDARIM-DE-LACERDA C.A., AGUILA M.B. Combined parental obesity augments single-parent obesity effects on hypothalamus inflammation, leptin signaling (JAK/STAT), hyperphagia, and obesity in the adult mice offspring. *Physiol Behav*, v. 153, p. 47-55, 2016.
 28. PAUL, Heather A. UNIVERSITY OF CALGARY. Developmental Programming of Obesity and Fatty Liver Disease in Offspring Exposed to Maternal Obesity and Dietary Intervention. Universidade de Calgary, Calgary, 2017.
 29. PRIEGO, T. et al. Maternal Dietary Fat Affects Milk Fatty Acid Profile and Impacts on Weight Gain and Thermogenic Capacity of Suckling Rats. *Springer AOCs*, n. 48, p. 481-495, fev./2013.
 30. ROCHA, Gabriela. Em dez anos, obesidade cresce 60% no Brasil e colabora para maior prevalência de hipertensão e diabetes. *Abr./2017*.
 31. ROCHA, Gabriella Campos. Micróbios e obesidade: Algumas interações importantes. Rio Claro, 2014.
 32. ROZA, Noemí Angélica Vieira. Estudo da morfologia e função renal na prole de ratas submetidas à ingestão crônica de dieta hiperlipídica: efeito do Tempol. 2016. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP, 2016.
 33. SIMINO, L. A. D. P. Obesidade materna na gestação e/ou lactação: impacto sobre o metabolismo lipídico e sensibilidade à dieta hiperlipídica na prole. Limeira, jan./2015.
 34. SOUZA, Fabíola Suano De; TARALLI, Giuliana. Programação metabólica e prevenção da obesidade. jun./2012.
 35. TUNC, O., BAKOS, H.W., TREMELLEN, K. Impacto do índice de massa corporal no estresse oxidativo seminal. *Andrologia*, v.43, n.2, p. 121-128, 2010.
 36. VALLERA, Helena de Cássia César. Efeitos da dieta materna e paterna na programação metabólica da prole com 21 dias até a idade adulta. Tese Doutorado em Nutrição - Universidade Federal de São Paulo. 2017.
 37. WAHLI, J. L. et al. Impact of High-Fat Diet and Obesity on Energy Balance and Fuel Utilization During the Metabolic Challenge of Lactation. *Articles Integrative Physiology: Obesity*, v. 20, n. 1, p. 65-75, jun./2011.

38. WHITAKER, K. L. et al. Comparing maternal and paternal intergenerational transmission of obesity risk in a large population-based sample: subtítulo do artigo. The American Journal of Clinical Nutrition: subtítulo da revista, Local, v. 91, n. 6, p. 1560-1567, mar./2020.
39. ZAMBON, L. et al. Efeitos de dois tipos de treinamento de natação sobre a adiposidade e o perfil lipídico de ratos obesos exógenos. Campinas, set./2009.